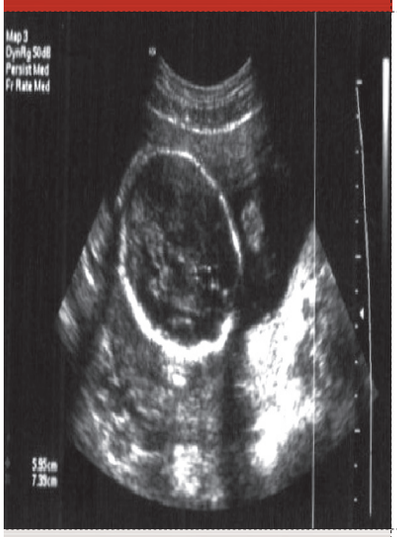
issn 0797–0803



Archivos de Ginecología y Obstetricia

2009
Volumen 47
Números 1–3
Pág. 18–29
Separata

ACTUALIZACIÓN DIAGNÓSTICA Y TERAPÉUTICA

Prevención de la inmunización anti–RhD en la gestación y transfusión de hemocomponentes

Jorge Decaro

www.sgdelu.org
www.sogiu.com

PUBLICACIÓN OFICIAL DE LA **SGU** Y DE LA **SOGIU** | DISTRIBUCIÓN GRATUITA

AGO47-1a3separata.indd 1 04/02/2011 09:33:49 p.m.

AGO47-1a3separata.indd 2 04/02/2011 09:33:49 p.m.

Prevención de la inmunización anti–RhD en la gestación y transfusión de hemocomponentes

Jorge Decaro[1]

Resumen

Se describe la historia de la inmunoglobulina anti–RhD (IG–RhD) hasta el año 1968 en que aparece la primera presentación comercial de uso intramuscular en EUA y un año después en Francia para administración intravenosa. También en 1968 se realiza en Manitoba, Canadá, la primera profilaxis antenatal.

En 1979, en Uruguay, publicamos el primer trabajo sobre transfusión feto–materna y la profilaxis con IG–RhD.

En 1982 un grupo de médicos del Hospital de Clínicas y del Centro Latinoamericano de Perinatología (CLAP) establecen las primeras "Normas de Prevención, Diagnóstico y Tratamiento de la Enfermedad Hemolítica Perinatal (EHP) por conflicto Rh(D)" que luego son adoptadas como normas nacionales por el Ministerio de Salud Pública (MSP).

En el año 2005, luego del trabajo en talleres de equipos multidisciplinarios se logró un consenso sobre la prevención, diagnóstico y tratamiento de la EHP que ha sido publicado y presentado al programa prioritario de Salud y Género del MSP para su revisión y adopción como nuevas pautas nacionales.

Luego de cuatro décadas de la aparición de la IgRhD comercial se ha disminuido notablemente el número de casos de EHP por anti–D. Sin embargo, existe un número de casos residuales porque no se indica la inmunoprofilaxis, porque no se realiza correctamente, por dosis insuficientes, porque sólo se utiliza en el postparto o porque se realizan transfusiones de hemocomponentes RhD positivos a mujeres RhD negativas en edad reproductiva activa.

La IgRhD es un hemoderivado producido a partir del fraccionamiento industrial de plasmas de individuos aloinmunizados en el que predomina el anticuerpo anti–D de la clase inmunoglobulina G (IgG). Una dosis de 300 microgramos de anti–D es suficiente para contrarestar los efectos inmunizantes de 15 ml de eritrocitos Rh D positivos, o aproximadamente 30 ml de sangre total (efecto dosis dependiente).

Como el mecanismo de profilaxis es mediante la administración pasiva de anticuerpos, no es una vacuna y tiene un efecto temporal, por lo cual debe repetirse la dosis en cada acto inmunizante.

En dos revisiones recientes (Cochrane Review) se demostró que la administración de IgGRhD, tanto después del parto como durante la gestación, previene la inmunización anti–D. Por ello, en este trabajo se analizan las posibles indicaciones de la inmunoprofilaxis antenatal y posparto de acuerdo al diagnóstico clínico e inmunohematológico. La indicación de la IgRhD se basa en la aplicación de un correcto monitoreo inmunohematológico de la gestación así como de una adecuada interpretación de los resultados.

En Uruguay, a partir del nuevo milenio estamos utilizando una preparación intravenosa de anti–D para la supresión de la inmunización anti–D. Una dosis de 120 microgramos (600 UI) de IgRhD intravenosa es recomendada dentro de las 72 horas posteriores al parto, dado que con la administración intravenosa se alcanza una concentración plasmática de IgRhD 2.5 veces superior y más precozmente que la intramuscular.

El máximo de concentración con la IgRhD por vía intramuscular se logra recién a las 48 horas, por lo cual el *clearance* de los glóbulos rojos D positivos fetales se realiza más rápidamente con la infusión intravenosa. La vida media de los anticuerpos anti–D es de aproximadamente 24 días por vía intravenosa y de aproximadamente 30 días por inyección intramuscular. La administración intravenosa tiene como ventajas que se necesita menos dosis, es de acción más rápida, no depende de la superficie corporal y es menos costosa. Administrar una dosis de 120 mcg antenatal y otra posparto tiene un costo promedio similar a la inyección de una sola dosis intramuscular posparto.

Para establecer un correcto **programa de inmunoprofilaxis** debemos conocer, en primer lugar, cuál es la prevalencia de gestantes Rh D negativas. En un estudio realizado en Uruguay se encontró una prevalencia de 12%, pero esto varía de un país a otro y de una región a otra del mundo. Por ejemplo, el antígeno D del sistema Rh tiene una prevalencia muy baja entre los indios americanos (1%), Asia (1%) y África (4%). Así, en países de Asia como China (0,25%), Corea del Sur (0,35%) y Hong Kong (1,2%) la inmunoprofilaxis anti–D no constituye un verdadero problema de salud pública.

Sin embargo, la mayoría de los países europeos tiene una prevalencia de individuos Rh D negativo mayor del 15% (Austria 19%, Inglaterra 17%, España 17%, Irlanda 16%, Dinamarca 16%, Holanda 16,3%, Suecia 18%). En segundo lugar, se deben establecer pautas o guías nacionales para el seguimiento inmunohematológico de la gestación y la inmunoprofilaxis anti–D. En un relevamiento que se realizó en 10 países desarrollados sólo el 50% tenía normas o guías nacionales (Inglaterra, Polonia, Holanda, Finlandia y EUA), tres de 10 realizaban profilaxis antenatal, cuatro de 10 cuantificaban la HFM de rutina, 9 de 10 estudiaban la variante D^{u} y tan solo 2 la variante D^{VI}. En otro reciente estudio en 8 países de la comunidad europea (CE) cuatro presentaban guías, cuatro no realizaban profilaxis antenatal, en cinco no hay datos de la prevalencia de la inmunización anti–D y la dosis de inmunoprofilaxis varía de 100 a 300 mcg.

La determinación del fenotipo fetal RhD desde muestras de líquido amniótico, vellosidad coriónica y recientemente de plasma materno, es utilizada para establecer, en gestantes inmunizadas al antígeno D, la posibilidad o no de afectación fetal con el fin de evitar técnicas de diagnóstico y tratamiento prenatal.

Pero también puede utilizarse en gestantes Rh negativas no inmunizadas al antígeno D para evitar la inmunoprofilaxis antenatal cuando existen fetos Rh D negativos.

Hasta ahora no hay una opción alternativa, aprobada para su uso clínico, tan segura y eficaz como el uso de la IgRhD para la prevención de la aloinmunización y por ende la EHP producida por este anticuerpo del sistema Rh. Sin embargo, en los últimos años se han desarrollado nuevas estrategias como la inmunoglobulina anti–D monoclonal y la estimulación de la tolerancia inmunológica.

Palabras clave: inmunoglobulina anti–RhD (Ig–RhD), enfermedad hemolítica perinatal (EHP)

1. Prof. Dr. Jorge Decaro
Cátedra de Medicina Transfusional, Hospital de Clínicas "Dr. Manuel Quintela".
Facultad de Medicina, UdelaR, Montevideo, Uruguay.

AGO47-1a3separata.indd 3 04/02/2011 09:33:49 p.m.

Abstract

The history of anti–RhD (IG–RhD) is described, since the first apearance in 1968 of the IM pharmaceutical formulation, in USA and one year later in France, for IV administration. Also in 1968, it was performed the first antenatal prophylaxis in Manitoba–Canada.

In 1979, we published in Uruguay, the first paper about fetal–maternal haemorraghe and prophylaxis with IgG –RhD.

In 1982 a group of physicians at the Hospital de Clínicas and the Latin American Center of Perinatology (From Spanish CLAP) Settled the first "Guidelines for Prevention, Diagnosis and Treatment of the Hemolytic Disease of the Newborn due to Rh(D)" that were lately adopted as national guidelines by the Ministry of Health.

In 2005 after multidisciplinary workshop a consensus was achieved about prevention, diagnosis and treatment of the HDN, that was published and presented to the Health and Gender Priority Program of the Ministry of Health, for review and adoption as national guidelines.

After 4 decades of the first available comercial IgRhD, the number of cases of HDN due to anti–D has dropped dramatically. However, there is a number of residual cases, because immune prophylaxis is not properly administered, dosage is too low, because is only used post partum or because RhD negative women at childbear risk are transfused with RhD positive hemocomponents.

IgG RhD is an hemoderivative produced by industrial process of plasma of alloimmunized subjects, were IgG anti D is predominant. One dose of 300 mcg of anti D is able to neutralize 15 ml of red blood cells RhD positive, or 30 ml of blood (the effect is dose dependent).

Since the mechanism of prophylaxis is mediated by pasive antibody administration, it is not considered to be a vaccine, and its effect is temporary, reason why it must be repeated after every event capable of immunization.

In 2 recent reviews (Cochrane Review), it was demostrated that the administration of IgG RhD after birth and during pregnancy can prevent anti D immunization. In this paper we analize posible indications of antenatal and postpartum immunoprophylaxis related with the clinical and immune hematologic diagnostic.

The indication of the use of IgG RhD is based on the correct immune hematologic monitoring of the pregnancy, along with correct result interpretation.

In our country, since new millenium, we are using a new pharmaceutical formula of IgG for IV use, for suppresion of anti D immunization. One dose of 120 mcg (600 UI) of IV IgG RhD is recommended in the first 72 hours post partum, since the IV route of administration reaches plasma concentration of IgG RhD 2.5 higher, and faster than IM administration.

The maximum concentration of IgG RhD via IM route is reached 48 hours after administration, reason why fetal red blood cells clearance is faster with IV administration. Median half life of anti D antibodies is approximately 24 days by IV route and 30 days by IM injection.

IV administration requieres a lower dose, has a faster action and does not depend on the body mass and is cheaper. The cost of two doses of 120 mcg antenatal and postpartum is similar to one single dose of 300 mcg by IM injection postpartum.

To stablish a correct program of immuneprophylaxis, we must know firtstly, the prevalence of RhD negative pregnant women. In one study conducted in Uruguay, we found that the prevalence is 12%. This number varies between countries and from one region to the other. For instance the D antigen of the Rh system has a lower prevalence between american indians (1%), Asia (1%) and Africa (1%). This explains why, in some countries in the Asian area, or China (0,25%), South Korea (0,35%) and Hong Kong (1,2%) the anti D immune prophylaxis does not represent a Public Health problem.

However, most of the european countries have a higher prevalence of Rh D negative subjects, of around 15% (Austria 19%, England 17%, Spain 17%, Ireland 16%, Denmark 16%, Neederlands 16,3%, Sweden 18%).

Secondly, national guidelines should be stablished, for the follow up of the pregnancy and anti D immune prophylaxis. One survey performed in 10 countries of the First World, only 50% of them had local guidelines (England, Poland, Holand, Finland and USA) 3 of 10 perform prenatal prophylaxis, 4 out of 10 quantify the fetal maternal hemorrhage and 9 out of 10 study the D^u variant, and only 2 the D^{VI} variant. Other recent study in 8 countries of the EC show that only 4 had guidelines, 4 of them do not do prenatal prophylaxis, in 5 there are no available data of prevalence of anti D immunization and the doses varies between 100 to 300 mcg.

The determination of the fetal RhD fenotype from amniotic fluid simple, chorionic villus sampling and recently from maternal blood, is used to stablish if the patient already immunized to anti D antigen is at risk or not of fetal disease, to avoid invasive diagnosis techniques and prenatal treatment.

Also the administration of anti D IgG in Rh negative women not alloimmunizated, can be avoided.

Until now, there is no alternative proved treatment for clinical use, as safe and efficacious as the IgG anti D for prevention of HDN due to antibodies RhD. However, in the last years, new strategies have been developed, such as monoclonal anti D and immune tolerance stimulation.

Key words: anti-D immunoglobulin (Ig-RhD), Haemolitic Disease of the Newborn (HDN)

INMUNOPROFILAXIS

En 1900, el mismo año que Karl Landsteiner describe el sistema ABO, von Dungern determina en experimentos en conejos que la inmunización activa provocada por un antígeno determinado puede ser prevenida por la administración pasiva de anticuerpos específicos contra el antígeno[1]. Sin embargo, este descubrimiento no fue aplicado para la prevención de la enfermedad hemolítica fetal hasta después de varios años del descubrimiento del sistema Rh en 1940.

En 1943, Levine observa que los anticuerpos anti–D se desarrollan más frecuentemente en aquellas mujeres que carecen de las aglutininas naturales anti–A y anti–B del sistema ABO[2]. Sin embargo, recién en 1956 fue claramente demostrado que la incompatibilidad ABO feto materna ejercía una protección frente a la inmunización anti–D gracias a los experimentos realizados por Stern y colaboradores[3]. En 1957, Kleihauer, Braun y Betke establecen la elución ácida como técnica para distinguir la hemoglobina fetal de la del adulto[4]. A partir de 1960 dos grupos de investigadores, uno en Liverpool y otro en New York, comienzan a realizar trabajos experimentales sobre la prevención de la inmunización anti–D. El grupo inglés basa sus trabajos en los hallazgos anteriores de la protección ABO y la técnica de Kleihauer. El grupo de New York, en cambio, desarrolla sus trabajos experimentales basados en el reporte de Theobald Smith de 1909 en que se demuestra que la respuesta inmune frente al toxoide de la difteria podía ser inhibida por un exceso de antitoxina[5]. En 1960 el Dr Finn, en un simposio médico en Liverpool, sugiere ***"It might be posible to destroy any fetal red cell found in their maternal circulation following delivery by means of a suitable antibody. If successful, this would prevent the development of erythroblastosis, so mimicking natural protection afforded by ABO incompatibility".*** El primer trabajo científico fue realizado por Stern y colaboradores en 1961, en el cual a 16 hombres voluntarios ORhD negativo se les inyectó repetidamente eritrocitos ORhD positivo sensibilizados con suero anti–D. Ninguno de los 16 hombres se inmunizó mientras que en subsecuentes inyecciones de eritrocitos no sensibilizados a 10 hombres produjo la inmunización anti–D en 5 después de la segunda inyección[6].

También en 1961, Finn y colaboradores determinan la incidencia y cantidad de eritrocitos fetales en la circulación de 256 madres Rh negativo. Los glóbulos rojos fetales fueron encontrados en 30 muestras (11.7%) y en cuatro (1.6%) el volumen de la hemorragia feto–materna fue superior a 5 ml[7]. En la misma publicación, Finn y colaboradores inyectan hombres voluntarios Rh negativo con eritrocitos Rh positivo. La subsecuente administración intravenosa de suero anti–D conteniendo inmu-

AGO47-1a3separata.indd 4 04/02/2011 09:33:50 p.m.

noglobulinas M y G, acelera el *clearance* de los eritrocitos Rh positivo. Concluyen que una manera de prevenir la inmunización anti–D, en madres ABO compatibles, puede ser mediante la rápida destrucción de los glóbulos rojos fetales inyectando suero anti–D lo cual produce un rápido *clearance*, similar a cuando existe incompatibilidad ABO.

En 1963 Clarke y colaboradores, del grupo de Liverpool, realizan tres series de experimentos donde hombres voluntarios Rh negativo son inyectados con eritrocitos Rh positivo. En el primer experimento, 30 minutos después de la inyección de los eritrocitos, a la mitad de los hombres se les administró plasma conteniendo anticuerpos anti–D del tipo IgM, lo cual tendría un efecto de protección similar a los anticuerpos ABO naturales que son también IgM. En el segundo experimento la mitad de los hombres voluntarios fue inyectada con 30–50 ml de plasma que contenía anticuerpos anti–D del tipo IgG. Ocho de 13 hombres tratados con anti–D IgM desarrollan inmunización (54%) mientras que sólo 1 de 11 no tratados (9%) se inmuniza. Concluyen que los anticuerpos anti–D completos (IgM) no solo no previenen la inmunización anti–D sino que parecen estimularla. En el segundo experimento, sólo 3 de 21 hombres tratados con IgG anti–D (14%) y 11 de los 21 no tratados (54%) desarrollan inmunización, lo cual sugiere una protección mediante anticuerpos incompletos (IgG). En el tercer trabajo se demuestra que los eritrocitos sensibilizados con anticuerpos IgG desaparecen más rápido de la circulación[8].

En 1963, Freda, Gorman y Pollack del grupo de New York, introducen una preparación con alto título de anti–D (inmunoglobulina anti–D) en sus programas de investigación. Freda y Gorman, que pertenecían a la Universidad de Columbia y Pollack a la *Ortho Research Fundation*, demuestran que la administración de 5 ml de esta inmunoglobulina anti–D 24 horas después de la inyección de eritrocitos Rh positivos a 5 hombres voluntarios Rh negativos, mensualmente, durante 5 meses, produce una protección total para la inmunización anti–D. Sin embargo, 4 de 5 hombres no protegidos con esta inmuno–globulina anti–D se inmunizan[9]. En 1964, el mismo grupo de investigadores establece que la inmunoglobulina anti–D protege el 100% de los voluntarios cuando es administrada por vía intramuscular hasta 72 horas después de la inyección de eritrocitos Rh positivos[10].

El primer trabajo sobre la prevención de la inmunización anti–D en gestantes fue publicado por Clarke y Sheppard del grupo de Liverpool en 1965, en una carta enviada a la revista *The Lancet*[11]. En ninguna de las 27 madres tratadas en el posparto con inmunoglobulina anti–D (IgG) se encontró signos de inmunización en un seguimiento realizado a los 3 y 6 meses del parto, mientras que 9 de las 29 no protegidas con inmunoglobulina se inmunizaron. También en una carta enviada a la revista *The Lancet* ese mismo año[12], Freda y colaboradores del grupo de New York reportan sus resultados clínicos preliminares. Ninguna de las 34 madres que recibieron inmunoglobulina anti–D posparto mostró inmunización a los 6 y 18 meses después del parto, mientras que 6 de las 56 del grupo control se inmunizaron al antígeno D. En 1967 se publica un trabajo sobre la tasa de inmunización en 329 madres tratadas con inmuno–globulina anti–D y 337 no tratadas recopiladas del grupo inglés, americano y alemán[13]. Mientras que ninguna del grupo tratado se inmunizó, 46 (14%) del grupo control sí lo hizo.

En 1968 se aprueba por la *Food and Drugs Administration* (FDA) en Estados Unidos de Norteamérica (EUA) la primera preparación comercial de inmunoglobulina anti–D, RhoGam de Ortho Diagnostics.

En 1969, se obtiene en Francia la primera preparación de inmunoglobulina anti–D para uso intravenoso[14]. La administración de 300 mcg de IgG anti–D junto con 0,5 ml de eritrocitos Rh pos demostró un *clearance* de 6 horas para la vía intravenosa y de más de 48 horas para la intramuscular.

Con el seguimiento de un número mayor de madres que recibieron inmunoglobulina anti–D posparto se demostró que el riesgo de inmunización anti D no era cero, como lo mostraban los trabajos hasta aquí publicados.

En 1971, Woodrow y colaboradores establecen que en 1015 mujeres estudiadas el fallo de la inmunoprofilaxis posparto es de 3 en 844 casos (0,36%) después del primer parto y de 3 en 171 (1,8%) luego del segundo[15].

Schneider recoge la información estadística de la inmunoprofilaxis en 10 países, encontrando que 93 de 22.239 mujeres (0,42%) tratadas con IgG anti–D desarrollan inmunización después del primer parto y 303 de 5266 (5.75%) de las que no recibieron inmunoglobulina, lo cual se corresponde con una tasa de protección del 92.8%. Luego de la segunda gestación la tasa fue de 90,3%[16].

En 1971, Pollack y colaboradores establecen la relación de la cantidad de inmunoglobulina anti–D (IgRhD) necesaria para neutralizar un volumen determinado de eritrocitos fetales: 20 microgramos (mcg) de Ig RhD por ml de eritrocitos o 10 mcg por ml de sangre fetal[17].

Zipursky y colaboradores, utilizando la técnica de Kleihauer, fueron los primeros investigadores en reconocer que en un número determinado de gestaciones existía un pasaje transplacentario de eritrocitos fetales antes del parto[18].

Finalmente, la primera profilaxis RhD antenatal, durante la gestación, fue realizada en Manitoba, Canadá en 1968. En la fase inicial 300 mcg de IgRhD eran administrados a las 34 semanas de gestación. Luego se cambia el protocolo y se administra una dosis a las 28 semanas y otra similar a las 34. Por último la profilaxis antenatal se redujo a una sola dosis a las 28 semanas de gestación y una segunda IgRhD era administrada posparto si el recién nacido era Rh positivo[19].

En 1979, publicamos en Uruguay el primer trabajo sobre la transfusión feto materna y la profilaxis por inmunoglobulina anti–D[20].

En 1982, un grupo de médicos del Hospital de Clínicas y del Centro Latinoamericano de Perinatología (CLAP) escribía un libro donde se describían la inmunoprofilaxis anti–D y todos los métodos de diagnóstico así como los tratamientos pre y posnatales utilizados en la enfermedad hemolítica perinatal (EHP) por aloinmunización anti RhD. Dicho esfuerzo comunitario fue premiado por la Academia Nacional de Medicina del Uruguay con el premio "*El País*", con lo cual se logró la publicación del libro y su distribución gratuita[21]. El mismo grupo de médicos pensó que además de lograr la difusión de los conocimientos debía pautar el seguimiento de esta patología tanto en el período prenatal como postnatal, para lo cual se propusieron las "*Normas de prevención, diagnóstico y tratamiento de la EHP por conflicto Rh(D)*", a las cuales se les otorgó el primer premio de la Asociación Médica del Uruguay[22] y luego fueron adoptadas como normas nacionales por el Ministerio de Salud Pública (MSP).

En el año 2001 entra en vigencia el Reglamento Técnico del Mercosur, Decreto PE 385/00 que en el capítulo L dedica cinco incisos a la profilaxis con inmunoglobulina anti–D en las gestantes Rh negativo[23].

El desarrollo de técnicas como la cordocentesis, la transfusión intrauterina intravascular, la gráfica de Queenan para los valores de densidad óptica del líquido amniótico, la técnica de inmunoprecipitación en gel para el diagnóstico inmunohematológico, la medición del flujo sanguíneo en la arteria cerebral media para el diagnóstico de anemia fetal, el diagnóstico del fenotipo fetal, la aparición de una inmunoglobulina anti–D de uso intramuscular o intravenoso con presentación de 120

AGO47-1a3separata.indd 5 04/02/2011 09:33:50 p.m.

mcg, nos motivó a realizar una revisión bibliográfica y comentar la experiencia personal no solo de la EHP por Rh(D), sino la producida por otros anticuerpos clínicamente significativos[24].

El objetivo de esta publicación fue mostrar, de manera clara y sencilla, incluso a través de la revisión de 11 historias clínicas, los elementos de prevención, diagnóstico y tratamiento de la EHP. Dado que en los últimos años ha variado sustancialmente el abordaje diagnóstico y de prevención junto con la aparición de nueva tecnología, pensamos que al igual que en 1982 este libro podía servir de base para realizar nuevas pautas de seguimiento de esta patología. En el año 2005, luego del trabajo en talleres de equipos multidisciplinarios se logró un consenso sobre la prevención, diagnóstico y tratamiento de la EHP, que ha sido publicado[25] y presentado al programa prioritario de Salud y Género del MSP para su revisión y adopción como nuevas pautas nacionales.

Luego de cuatro décadas de la aparición de la IgRhD comercial (RhoGam) se ha disminuido notablemente el número de casos de EHP por anti–D. Sin embargo, existe un número de casos residuales por falla de la inmunoprofilaxis pero también han aumentado los casos de EHP por otros anticuerpos diferentes al D, para los cuales no existe todavía inmunoprofilaxis. La única prevención sería la disminución de las transfusiones, sobre todo de glóbulos rojos, en la población de mujeres en edad reproductiva activa y en caso de realizarlas utilizar sangre fenotipada en el sistema Rh y Kell, dado que producen más del 90% de los casos de EHP por anticuerpos diferentes al D.

La **inmunoglobulina RhD (IgRhD)** es un hemoderivado producido a partir del fraccionamiento industrial de plasmas de individuos aloinmunizados en el que predomina el anticuerpo anti–D de la clase inmunoglobulina G (IgG). Una dosis de 300 microgramos de anti–D es suficiente para contrarrestar los efectos inmunizantes de 15 ml de eritrocitos Rh D positivos, o aproximadamente 30 ml de sangre total (efecto dosis dependiente).

Este efecto protector de la IgG anti–D sobre los individuos D negativo expuestos a células D positivas probablemente resulta de la interferencia con el reconocimiento antigénico en la fase de inducción de la inmunización[26]. La IgRhD en la circulación materna se une a los glóbulos rojos fetales (GRF) Rh D positivos y éstos son secuestrados en el bazo. Básicamente, las funciones de este órgano del sistema inmune son: [1] retirar células sanguíneas senescentes y microorganismos extraños por filtración y [2] desarrollar la respuesta inmune frente a antígenos foráneos. Estas actividades están anatómicamente separadas, una se cumple en la pulpa roja y otra en la pulpa blanca. La rápida desaparición de los GRF pasivamente sensibilizados en la pulpa roja evitaría el contacto del antígeno D con las células inmunocompetentes de la pulpa blanca, donde se produce la respuesta inmune[27]. Por ello la inmunoprofilaxis con IgRhD no es efectiva una vez que se ha iniciado la respuesta inmune. A los 13 días de la administración de 1 ml de eritrocitos RhD positivos la infusión de 100 microgramos de IgRhD neutraliza la inmunización en el 50% de los casos[28].

Como el mecanismo de profilaxis es mediante la administración pasiva de anticuerpos no es una vacuna y tiene un efecto temporal, por lo cual debe repetirse la dosis en cada acto inmunizante. La IgRhD adecuadamente preparada mediante doble inactivación viral, como otras preparaciones de inmunoglobulinas, es un hemoderivado seguro que tiene un escaso riesgo de transmisión viral[29]. Cada microgramo (mcg) equivale a 5 unidades internacionales (UI), por lo cual la presentación de 120 mcg representan 600 UI y la de 300 mcg 1500 UI.

En dos recientes revisiones (Cochrane Review) se demostró que la administración de IgRhD tanto después del parto como durante la gestación previenen la inmunización anti–D.[30, 31]

Prevención de la aloinmunización anti–RhD en el embarazo y el parto

Cuando una sustancia extraña (antígeno) entra en contacto con el sistema inmunitario de un individuo, generalmente se produce una respuesta inmune ya sea mediada por células (inmunidad celular) o por anticuerpos (inmunidad humoral). Cuando la respuesta inmune mediada por anticuerpos es producida por antígenos de individuos de la misma especie se denomina aloinmunización. En el hombre esto ocurre usualmente ante transfusiones de hemocomponentes, compartir jeringas en la drogadicción intravenosa, gestaciones y/o trasplante de órganos y tejidos.

Cuando la embarazada carece de los antígenos que el feto posee en sus glóbulos rojos y estos penetran en la circulación materna, puede producirse una respuesta inmune. La enfermedad hemolítica perinatal (EHP) es una patología típicamente producida por una reacción de hipersensibilidad tipo II mediada por anticuerpos dirigidos contra antígenos de la superficie celular.

Si los anticuerpos maternos corresponden a la clase inmunoglobulina G (IgG) cruzan la placenta hacia el feto frecuentemente en embarazos subsiguientes, y se produce una reacción antígeno–anticuerpo *in vivo* cuando las células fetales poseen el antígeno correspondiente. Se dice entonces que la madre está **aloinmunizada** a antígenos de glóbulos rojos humanos y que los eritrocitos fetales se encuentran **sensibilizados** pues tienen el anticuerpo unido al antígeno presente en su membrana celular. Estos glóbulos rojos sensibilizados con la IgG son retirados de la circulación fetal por los macrófagos del sistema retículo endotelial, principalmente en el bazo, que tienen receptores para la fracción Fc de la inmunoglobulina o C3b del complemento, produciéndose una **hemólisis extravascular**. Se puede definir entonces a la EHP como una anemia hemolítica de causa extracorpuscular inmune. Resumiendo, para que la EHP se produzca es necesario:

– incompatibilidad de grupo sanguíneo materno fetal;
– aloinmunización materna específica contra uno o varios antígenos eritrocitarios fetales;
– pasaje de anticuerpos maternos hacia el feto;
– presencia en los eritrocitos fetales del antígeno correspondiente;
– destrucción acelerada de los glóbulos rojos fetales.

Si bien la aloinmunización materna es la primera condición para que se produzca EHP, no toda gestante aloinmunizada desarrolla EHP dado que puede presentar anticuerpos de la clase IgM que no pasan a la circulación fetal o el feto carece del antígeno correspondiente. Por tanto, el diagnóstico de aloinmunización materna es más frecuente que el de EHP pero si se previene la inmunización materna no existirá EHP.

Los anticuerpos de la clase IgG (monómeros) cuando se unen al antígeno de la membrana de los eritrocitos no producen aglutinación dado que la distancia entre los dos fragmentos Fab (sitios de unión al antígeno) del anticuerpo no alcanzan a cubrir la distancia intercelular (50–100 A°) entre dos glóbulos rojos determinada por el potencial zeta. En el caso de moléculas de IgM (pentámeros) más grandes se produce aglutinación directa. Para detectar la presencia del anticuerpo IgG por la técnica de aglutinación es necesario utilizar el suero de Coombs. En 1945, Coombs, Mourant y Race[32] describieron el procedimiento para detectar los anticuerpos unidos a los eritrocitos y que no provocaban aglutinación. RR Coombs, que era veterinario, inyectó a un conejo inmunoglobulinas humanas

AGO47-1a3separata.indd 6 04/02/2011 09:33:50 p.m.

produciendo en el animal una respuesta inmune humoral. Dado que la fracción Fc de la IgG humana es la fracción antigénica de la molécula, los fragmentos Fab del anticuerpo del conejo (anti–globulina humana) se unen a los Fc de la IgG unida a los eritrocitos formando un puente y haciendo visible su presencia mediante la aglutinación de los glóbulos rojos.

La magnitud de la aglutinación suele ser proporcional a la cantidad de IgG fijada.

La **prueba de Coombs directa (PCD)** se usa para demostrar la cobertura *in vivo* de los eritrocitos con inmunoglobulinas en particular IgG, o fracciones del complemento como C3d. Por ejemplo, a los glóbulos rojos fetales o del RN que pueden sensibilizarse *in vivo* con las IgG maternas, se les realiza la PCD para diagnosticar EHP. Antes de agregar el suero antiglobulina humana (SAGH) se deben lavar los eritrocitos para eliminar las proteínas libres que pueden neutralizar el SAGH y producir falsos resultados negativos.

La **prueba de Coombs indirecta (PCI)** se utiliza para detectar IgG antieritrocitarias libres, circulantes, no unidas a los glóbulos rojos. Es indirecta porque, a diferencia del caso anterior, antes del agregado de SAGH se necesita una fase previa de sensibilización *in vitro*. El suero o plasma de la gestante, en el cual queremos investigar la presencia de IgG antieritrocitarias, se debe incubar *in vitro* con los glóbulos rojos que contengan el antígeno específico. Si existen anticuerpos circulantes éstos se van a fijar al antígeno de la membrana del glóbulo rojo y luego, con el agregado de SAGH, se hará visible su presencia mediante aglutinación. En esta prueba, además del lavado de los eritrocitos como en la PCD, es muy importante que se enfrente el plasma a glóbulos rojos fenotipados que contengan la mayoría de los antígenos clínicamente significativos. De no ser así se pueden obtener falsos resultados negativos que pueden llevar a catalogar a un embarazo de bajo riesgo cuando en realidad no lo es.

La formación de las células sanguíneas en el embrión humano comienza en la tercera semana de gestación y el antígeno D del sistema Rh ha sido demostrado en la membrana eritrocitaria a partir del día 38. Se han encontrado eritrocitos fetales en la circulación materna en los abortos espontáneos o provocados en el curso del primer trimestre existiendo, por tanto, riesgo de inmunización. La dosis mínima para producir una inmunización primaria sería de 0,01 a 0,03 ml de glóbulos rojos fetales, lo que equivale a 1 eritrocito fetal cada 100.000 maternos. En la práctica, el volumen de sangrado de una hemorragia feto materna (HFM) es variable, siendo en el 99,5% de los casos menor a 15 ml. Sin embargo, un tercio de los individuos de la especie humana no responde a la estimulación antigénica (tolerancia inmunológica), es decir, no forman anticuerpos a pesar de entrar en contacto con el antígeno. Este carácter estaría regulado genéticamente por los genes de respuesta inmune. A su vez, la incompatibilidad en el sistema ABO entre madre y feto disminuye el riesgo de aloinmunización y aproximadamente un tercio de las mujeres RhD negativas tendrá fetos también RhD negativos. Por lo tanto, el riesgo de inmunización anti–D por embarazo es aproximadamente del 15%.

La indicación de inmunoprofilaxis anti–D en las gestantes RhD negativo se basa en la aplicación de un correcto monitoreo inmunohematológico así como una adecuada interpretación de los resultados. En el consenso 2005[25] se propone que a todas las embarazadas en la primera consulta (preferentemente en el primer trimestre) se les debe realizar una búsqueda de anticuerpos inmunes antieritrocitarios junto con la determinación del grupo sanguíneo ABO y RhD. Si se utiliza la técnica de inmunoprecipitación en gel (Diamed) a las gestantes RhD negativas se les debe repetir el grupo sanguíneo y los anticuerpos inmunes entre las 25 y 27 semanas de gestación.

Inmunoprofilaxis antes del parto

La IgRhD debe administrarse a una mujer RhD negativo con pruebas para anticuerpos anti–D negativas, luego de cualquier acontecimiento obstétrico capaz de permitir el ingreso de células fetales a la circulación materna: el aborto espontáneo o terapéutico, el embarazo ectópico, la amniocentesis, la extracción de muestras de vellosidades coriónicas, la cordocentesis, la hemorragia anteparto o la muerte fetal entre otros.

Si cualquiera de estas posibilidades ocurre **antes de las 13 semanas** de gestación, una dosis de 50 microgramos de IgRhD es adecuada para proteger contra el pequeño volumen HFM durante el primer trimestre[33]. **Desde las 13 semanas** en adelante hasta el término se debe dar una dosis de IgRhD de 250–300 microgramos intramuscular o 120 mcg intravenosa.

El amplio uso de la inmunoprofilaxis posparto ha disminuido la inmunización contra el antígeno D asociada con el embarazo desde aproximadamente 13% hasta 1–2%. El riesgo disminuye hasta 0,1% si se administra también IgRhD antes del parto **entre las 28 y 32 semanas** de gestación[34] dado que las mujeres que desarrollan anticuerpos anti–D durante el embarazo, el 92% lo hace a esta edad gestacional. La sangre obtenida antes de la inyección de IgRhD debe ser sometida a pruebas para grupo sanguíneo ABO, RhD, variantes del antígeno D (D débil o D^u y D^{VI}) y para anticuerpos antieritrocitarios utilizando paneles eritrocitarios de fenotipo conocido. Nosotros usamos la **técnica de precipitación en gel** una microtécnica que permite macrolectura con reactivos incorporados y asociado a un sistema computarizado que evita el error humano. Es además un método más sensible que la tradicional técnica en tubo, por eso actualmente recomendamos que los controles inmunohematológicos durante el embarazo se realicen uno en el primer trimestre y otro a las 25–27 semanas. Cuando se administra IgRhD si se repiten los estudios de anticuerpos anti–D antes de las 8 semanas siguientes, probablemente sean positivos por los anticuerpos anti–D administrados pasivamente por la IgRhD. Los anticuerpos anti–D administrados que son principalmente IgG pasan la placenta y el recién nacido en caso de ser Rh D positivo puede nacer con un TCD positivo pero sin evidencia de hemólisis[35]. Por ello, debe haber una buena comunicación entre el médico tratante y el médico hemoterapeuta para asegurar que exista una correcta interpretación de las pruebas de laboratorio realizadas durante la gestación y en el momento del parto.

En 1982, con la técnica en tubo, proponíamos controles inmunohematológicos seriados cada 4 semanas durante la gestación[22].

El servicio de Medicina Transfusional debe llevar un correcto seguimiento inmunohematológico del embarazo, realizando la historia clínica así como un registro de los resultados de laboratorio pre y posparto y de la administración de la IgRhD, lo cual debe constar en la historia clínica de la gestante.

El médico hemoterapeuta supervisará la administración de la IgRhD, en qué dosis y a qué edad gestacional, en base a resultados de laboratorio recientes.

De acuerdo a la tabla 2 no se debe administrar IgRhD a las mujeres embarazadas RhD positivo o D débil (D^u). En estos casos los glóbulos rojos tienen el antígeno D en su membrana en mayor o menor grado por lo cual la embarazada no produce anticuerpos anti–D. Tampoco se debe dar IgRhD a las RhD negativo pero que ya presentan anticuerpos anti–D (aloinmunizadas), salvo en los casos que el resultado de laboratorio es debido a la presencia de anticuerpos pasivos por la administración previa de IgRhD. Es deseable obtener confirmación de los registros médicos y de laboratorio en el servicio de Medicina Transfusional, pero la IgRhD debe darse siempre y cuando no se pueda resolver la duda con facilidad. Las mujeres Rh D

AGO47-1a3separata.indd 7 04/02/2011 09:33:50 p.m.

negativas aloinmunizadas pero con anticuerpos diferentes al D (por ejemplo anti–c, anti–e, anti C, anti–E, anti–Kell) son candidatas a la administración de IgRhD para evitar que se agregue un anticuerpo anti–D.

Inmunoprofilaxis posparto

La sangre de cordón de recién nacidos de madres D negativas se debe someter a pruebas para grupo sanguíneo ABO, RhD y test de Coombs directo (TCD). Una mujer RhD negativa cuyo recién nacido (RN) es RhD negativo no debe recibir IgRhD. En caso que el RN sea RhD positivo o Du con TCD negativo la madre debe recibir una dosis de 300 microgramos de IgRhD intramuscular o 120 mcg intravenosa lo antes posible, dentro de las **72 horas posteriores al parto**. Si pasan más horas es mejor hacer la inmunoprofilaxis que no hacerla. En algunos casos ha sido efectiva aún administrada hasta 13 días después del parto[28]. Cuando la embarazada ha recibido inmunoprofilaxis en la semana 28 de gestación debe recibir también inmunoprofilaxis posparto a pesar que el RN Rh positivo pueda mostrar un TCD positivo por los anticuerpos pasivos administrados durante el embarazo. La presencia de IgG anti–D residual de la administración preparto no indica una protección vigente en el momento del parto. Una embarazada Rh negativa con TCI negativo puede tener también un RN con TCD positivo debido a un conflicto ABO, por lo cual debe recibir inmunoglobulina anti–D posparto. Una embarazada Rh negativa con TCI positivo por un anticuerpo diferente al D (anti–C, anti–e, anti–Kell) puede tener un RN RhD positivo con TCD positivo o negativo. En ambos casos debe recibir inmunoprofilaxis anti–D posparto (ver tabla 2). Más raramente, un RN Rh D positivo puede tener un TCD positivo porque la madre Rh D negativa también presenta un TCD positivo por autoanticuerpos que pasan la placenta. En estos casos también debe realizarse inmunoprofilaxis cuando el RN es Rh D positivo. Durante la gestación los autoanticuerpos más frecuentes son los antifosfolípidos, dando un patrón de aglutinación característico con un test de Coombs indirecto positivo que aglutina los eritrocitos de los tres paneles de investigación e inclusive los once de los paneles de identificación sin poder interpretar los resultados de esta panaglutinación. Sin embargo, no existen inconvenientes para realizar el grupo sanguíneo ABO y Rh. En un estudio de seguimiento realizado durante cinco años en 14.860 gestantes se encontró que 157 (1.05%) tenían anticuerpos antieritrocitarios, de los cuales 153 eran aloanticuerpos y 4 autoanticuerpos con este patrón de aglutinación[36]. En los cuatro casos de autoanticuerpos se demostró la presencia de anticuerpos antifosfolípidos. Este diagnóstico precoz es muy importante para la gestación si se realiza en la primera consulta. Cuando la gestante presenta un test de Coombs indirecto y directo positivo se debe informar al obstetra para que investigue anticuerpos antifosfolípidos y comience la terapia anticoagulante lo antes posible. Sin embargo, la mayoría de los anticuerpos antifosfolípidos no produce TCD y TCI positivos por técnica en gel durante la gestación.

Más raramente la gestante puede presentar una anemia hemolítica autoinmune (AHAI). Hasta ahora no hemos visto ningún caso clínico pero se han reportado algunos a nivel mundial[37][38]. Incluso este mecanismo autoinmune puede estar generado por medicamentos como la alfametildopa, que se puede utilizar para el tratamiento de la hipertensión durante la gestación y generar un TCD positivo. También en el embarazo puede producir autoanticuerpos inespecíficos benignos que pueden volver positivo el TCD materno y del recién nacido, pero sin manifestaciones clínicas de hemólisis en la gestante, feto o RN. Generalmente estos autoanticuerpos desaparecen meses después del parto.

Tabla 1.
Esquema para la administración de IgRhD preparto

	Rh D	TCI	Diagnóstico	Seguimiento	IgRhD
1	pos	neg	sin anticuerpos	ninguno	no administrar
2	pos	pos	anticuerpos distintos al anti–D	identificación del anticuerpo	no administrar
3	pos D débil (Du)	neg	antígeno D presente	ninguno	no administrar
4	neg	neg	sin anticuerpos	primer trimestre 26 semanas	administrar
5	neg	pos	con anticuerpos	identificación del anticuerpo	
				5.1 anti–D inmune	no administrar
				5.2 anti–D pasivo	administrar
				5.3 anticuerpo distinto al anti–D	administrar
TCI = Test de Coombs Indirecto con panel de glóbulos rojos de fenotipo conocido.					

Tabla 2.
Esquema para la administración de IgRh anti–D posparto

MADRE	DIAGNÓSTICO	RN	IgRhD
Rh neg TCI neg		Rh neg TCD neg	no
Rh neg TCI neg		Rh pos TCD neg	si
Rh neg TCI neg	conflicto ABO	Rh pos TCD pos	si
Rh neg TCI pos	anti–D	Rh pos TCD pos	no
Rh neg TCI pos	diferente al D	Rh pos TCD pos	si
Rh neg TCI pos	diferente al D	Rh pos TCD neg	si
Rh neg TCI pos	diferente al D	Rh neg TCD pos	no
TCD: test de Coombs directo			

En cuanto a la inmunoprofilaxis para las variantes del antígeno D, ya dijimos que la variante cuantitativa (D débil o D^u) debe ser considerada como Rh positivo y por tanto no recibir IgG anti–D. En cambio la variante cualitativa D^{VI} debe ser considerada como Rh negativo, pues si bien los eritrocitos tienen el antígeno D le faltan fracciones (epitopes) de su molécula, por lo cual pueden desarrollar anticuerpos anti–D contra los epitopes faltantes y presentes en los eritrocitos del RN. Debe recibir inmunoprofilaxis antenatal y en caso de tener un RN Rh positivo, una nueva dosis posparto[39]. La pregunta es si la dosis administrada de IgG anti–D se une a los epitopes presentes en los eritrocitos maternos y por tanto no es suficiente para prevenir la inmunización. En un trabajo publicado se muestra que una importante proporción de la IgGanti–D no se une a los eritrocitos con variante D^{VI}[40]. Es importante diagnosticar esta variante como Rh negativo ya que si bien es rara puede producir anticuerpos anti–D, los cuales pueden ser causa de hidrops fetal[41].

La administración posparto de la IgRhD puede no impe-

AGO47-1a3separata.indd 8 04/02/2011 09:33:50 p.m.

dir la inmunización si la cantidad de eritrocitos fetales D positivos que ingresan a la circulación materna exceden la capacidad supresora de la IgRhD. Se estima que sólo el 0,3% de los embarazos tiene una **hemorragia fetomaterna (HFM)** mayor de 30 ml de sangre o 15 ml de GRF. Las HFM mayores son una causa importante y prevenible de inmunoprofilaxis fallida.

Históricamente, la cuantificación de la HFM se ha logrado por la **prueba de elución ácida de Kleihauer–Betke**, que se basa en la diferencia entre la hemoglobina fetal y la adulta en la resistencia a la elución ácida. Los resultados se informan como porcentaje de células fetales pero la precisión y exactitud del procedimiento para determinar la cantidad de la HFM en mililitros puede no ser tan buena como el diagnóstico cualitativo.

La **citometría de flujo** tiene una sensibilidad similar a la técnica de Kleihauer–Betke pero provee un resultado más objetivo y reproducible desde el punto de vista cuantitativo, con un costo mucho mayor[42].

Recientemente se ha utilizado la técnica de **inmunoprecipitación en gel**[43] para la detección de glóbulos rojos Rh(D) positivos en la sangre materna. Cualquiera sea la técnica que se emplee para la determinación de la HFM, ésta debe realizarse antes de las 12 horas posteriores al parto ya que luego los hematíes fetales hacen *clearance* fisiológico y no se detectan. En las grandes HFM como las que ocurren en las placentas previas o en el desprendimiento de placenta normoinserta (DPNI), al realizar la determinación del grupo sanguíneo Rh (D) materno puede aparecer campo mixto o doble población (hematíes aglutinados y sin aglutinar) e incluso puede llevar a error y a clasificar una puérpera con Rh negativo como Rh positivo, siendo, por el contrario, la que más inmunoglobulina anti–D requiere.

Algunos trabajos muestran que los embarazos múltiples tienen un riesgo mayor de HFM[44,45] lo cual es importante dado el incremento que este tipo de gestaciones ha tenido debido a la aplicación de técnicas de reproducción asistida. Lo correcto sería administrar las dosis recomendadas para las gestaciones con un único feto midiendo el volumen de la HFM con el fin de ajustar o no la dosis de IgRhD suministrada. Como en Uruguay la medición de la HFM no se realiza de manera rutinaria durante la gestación y el posparto, sugerimos en los casos de gestaciones múltiples administrar una dosis posparto de 300 mcg (1500 UI) intravenosa. De esta manera se aumenta la dosis, se cubre una HFM de 37,5 ml de GRF pero sin incrementar el número de inyecciones.

En el primer trimestre, en la mayoría de los países la dosis de IgRhD sugerida es de 50 mcg dado el escaso volumen de HFM que se presenta en la mayoría de las gestaciones unitarias. En Uruguay, la dosis más pequeña de IgRhD es de 120 mcg (600 UI) que si se administra por vía intramuscular cubrirá una HFM de un volumen de más del doble que la dosis de 50 mcg (250 UI), y si se administra por vía intravenosa cubriría una HFM de 15 ml de GRF lo cual sería suficiente para las gestaciones múltiples.

En Uruguay se utiliza una **preparación intravenosa** de anti–D para su uso en la supresión de la inmunización anti–D. Una dosis de 120 microgramos (600 UI) de IgRhD intravenosa es recomendada dentro de las 72 posteriores al parto dado que con la administración intravenosa se alcanza una concentración plasmática de IgRhD 2.5 veces superior y más precozmente que la intramuscular[46]. El máximo de concentración con la IgRhD por vía intramuscular se logra recién a las 48 horas, por lo cual el *clearance* de los glóbulos rojos D positivos fetales se realiza más rápidamente con la infusión intravenosa. La vida media de los anticuerpos anti–D es de aproximadamente 24 días cuando se administran por vía intravenosa y de aproximadamente 30 días después de la administración intramuscular. La administración intravenosa tiene como ventajas que se necesita menos dosis, es de acción más rápida, no depende de la superficie corporal y es menos costosa. Administrar una dosis de 120 mcg i.v. antenatal y otra igual post parto tiene un costo promedio similar a la realización de una sola dosis i.m. posparto de 300 mcg.

La dosis intramuscular depende del peso corporal, por lo cual en las mujeres obesas se recomienda administrar una dosis adicional[47].

La presentación **WinRho SDF** es para uso intramuscular e intravenoso, indistintamente. Es preparada a partir de plasma humano por un proceso de cromatografía por lo cual se obtiene un producto de alta pureza comparado con los que utilizan el método de fraccionamiento de Cohn con etanol. Se agregan dos procesos de inactivación viral, el solvente–detergente (SD) para remover los virus con cubierta lipídica (VIH, hepatitis B y C) y la nanofiltración (F) para remover otros virus sin cubierta lipídica (parvovirus B19, hepatitis A). Se obtiene de plasma humano proveniente exclusivamente de América del Norte con el fin de evitar la enfermedad de Creutzfeldt–Jakob (CJD). No contiene preservativos con niveles mínimos de IgA. Puede se usada también para el tratamiento del púrpura trombocitopénico autoinmune (PTA) en pacientes Rh (D) positivo y no esplenectomizados, o para inmunoprofilaxis en receptores Rh (D) negativo que reciben glóbulos Rh (D) positivo. Tiene tres presentaciones de 600, 1500 o 5000 UI que corresponden a 120, 300 o 1000 microgramos, respectivamente. Se debe tener cuidado cuando se prepara el producto liofilizado con el diluyente previo a la infusión. El frasco diluyente trae un volumen de 8,5 ml que es para la presentación de 1000 mcg (5000 UI) pero cuando se usa una dosis de 120 o 300 mcg intravenosa se debe diluir con sólo 2,5 ml mientras que por vía intramuscular con la mitad del volumen (1,25 ml).

La IgRhD no debe administrarse a RN RhD positivo o a RN con EHP. En los casos de neonatos con EHP la prevención de la hemólisis se realiza con la administración de inmunoglobulina polivalente de uso intravenoso. Tampoco debe inyectase a gestantes RhD negativo con anticuerpos anti–D, salvo que estos sean pasivos por la administración previa de IgRhD. Las preparaciones de IgRhD contienen trazas de otros anticuerpos como los del sistema ABO, Rh (diferentes al D), Kidd (Jk), Duffy (Fy), entre otros, los cuales pueden positivizar el TCI de la gestante y/o el TCD del RN. La interpretación de estos resultados debe realizarse en el contexto de un correcto análisis de la situación clínica y la paraclínica. La IgRhD también puede tener trazas del factor XI de la coagulación. Recientemente se ha publicado un caso de una gestante RhD negativa con un déficit congénito de factor XI que a los tres meses después del parto se le diagnostica un inhibidor del FXI de 8 unidades Bethesda producido por las tres dosis de 300 mcg intramuscular de Ig RhD que recibió durante la gestación y el posparto[48].

No existe un **criterio universal para la inmunoprofilaxis anti–D.** La dosis de inmunoglobulina anti–D a administrar así como los tests para determinar el volumen de la HFM varían de un país a otro. Por ejemplo, la dosis estándar de IgRhD **posparto** es de 300 microgramos en Estados Unidos de Norteamérica, 120 microgramos en Canadá y de 200 a 300 microgramos en la mayoría de los países europeos a excepción de Inglaterra, Francia e Irlanda, donde la dosis es de 100 microgramos (500 UI). Algunos estudios muestran que el 99% de las mujeres tiene HFM menor a 4 ml durante el parto[10] [11] y que 100 microgramos son capaces de prevenir una inmunización de 5 ml de glóbulos Rh (D) positivo. En esto se basa Inglaterra para administrar 100 microgramos posparto pero se debe realizar rutinariamente un test, con una muestra de sangre materna obtenida dentro de las dos horas posparto para determinar

AGO47-1a3separata.indd 9 04/02/2011 09:33:51 p.m.

la HFM mayores de 5 ml que requieren una dosis adicional de IgRhD. Por el contrario, la mayoría de los países europeos utilizan una dosis posparto de 200 a 300 microgramos (1000 a 1500 UI) sin utilizar un test para medir la HFM[49]. Pero con este protocolo no se cubriría el 0,3% de las mujeres que tiene HFM superior a los 15 ml de glóbulos Rh (D) positivos.

La **profilaxis antenatal** con una dosis de IgRhD entre las 28 y 32 semanas de gestación de 300 microgramos intramuscular se utiliza rutinariamente en Estados Unidos y Canadá desde hace ya varios años, con buenos resultados. *The Royal College of Obstetricians and Gynaecologists*[50] recomienda una dosis de por lo menos 500 UI (100 microgramos) a las 28 semanas de gestación y otra similar a las 34 semanas. Recientemente, en un trabajo científico realizado en Holanda, donde se realiza un protocolo de seguimiento inmunohematológico similar al de Uruguay desde 1998, se determinó que una sola dosis de 200 mcg intramuscular de IgRh a las 30 semanas de gestación previene la inmunización anti–D[51]. Es de destacar que en este país europeo la inmunoprofilaxis antenatal se realiza solamente en aquellas gestantes que no han tenido hijos debido a la escasez del hemoderivado. En Uruguay, según el consenso 2005 se recomienda una dosis de 300 mcg intramuscular o 120 mcg intravenosa posparto y antenatal entre la semana 28 y 32 de la gestación, dado que no se realiza la determinación de la HFM de manera rutinaria (Tabla 3)[25].

Tabla 3.
Esquema de inmunoprofilaxis anti–D

Indicación	Dosis y vía de administración
Terminación de la gestación antes de las 12 semanas.	120 mcg por vía i.m.
Aborto, embarazo ectópico u otras complicaciones obstétricas	
Después de las 12 semanas, amniocentesis, muestra de vellosidad coriónica	120 mcg por vía i.v. o 300 mcg por vía i.m.
Complicaciones obstétricas (placenta previa, desprendimiento placentario, etc)	
Profilaxis antenatal entre las 28 y las 32 semanas de gestación	
Posparto	

Para establecer un correcto **programa de inmunoprofilaxis** se debe conocer, en primer lugar, cuál es la prevalencia de gestantes Rh D negativo. En un estudio realizado en Uruguay se encontró una prevalencia del 12%[52], pero esto varía de un país a otro y de una región a otra del mundo. Por ejemplo, el antígeno D del sistema Rh tiene una prevalencia muy baja entre los indios americanos (1%), Asia (1%) y África (4%). Así, en países de Asia como China (0,25%), Corea del Sur (0,35%) y Hong Kong, China (1,2%) la inmunoprofilaxis anti–D no constituye un verdadero problema de salud pública.

Sin embargo la mayoría de los países europeos tienen una prevalencia de individuos Rh D negativos mayor del 15% (Austria 19%, Inglaterra 17%, España 17%, Irlanda 16%, Dinamarca 16%, Holanda 16,3%, Suecia 18%)[53].

En segundo lugar, se deben establecer pautas o guías nacionales para el seguimiento inmunohematológico de la gestación y la inmunoprofilaxis anti–D. En un relevamiento que se realizó en 10 países desarrollados solo el 50% tenía normas o guías nacionales (Inglaterra, Polonia, Holanda, Finlandia y EUA), tres de 10 realizaban profilaxis antenatal, cuatro de 10 cuantificaban la HFM de rutina, 9 de 10 estudiaban la variante D^u y tan solo 2 la variante D^{VI}[54].

En otro reciente estudio en 8 países de la comunidad europea (CE) cuatro presentaban guías, cuatro no realizaban profilaxis antenatal, en cinco no hay datos de la prevalencia de la inmunización anti–D y la dosis de inmunoprofilaxis varía de 100 a 300 mcg[55].

En España, país que no fue incluido en el estudio anterior, el 92% de los hospitales realiza el grupo sanguíneo y la búsqueda de anticuerpos inmunes entre la semana 10 y 16 de la gestación. El estudio de anticuerpos se repite entre la semana 28 y 36 en el 86% de los hospitales de los cuales 16 de 57 (86%) realizan sólo la determinación en mujeres Rh negativas. La profilaxis antenatal se realiza en forma sistemática entre las 28 y 32 semanas de gestación (300 mcg i.m.) en el 76% de los hospitales. Para la profilaxis posparto utilizan la misma dosis[55]. Carecen de la presentación de 120 mcg de uso intravenoso o intramuscular.

Se debería lograr el **consenso internacional** para establecer un correcto programa de prevención de la aloinmunización materna al antígeno D del sistema Rh.

En Uruguay se carece de datos sobre la incidencia de la EHP por anti–D dentro de las patologías perinatales y cuál es la tasa de mortalidad. Menos aún es posible establecer las causas de falla de la inmunoprofilaxis.

Existe, a pesar de la administración de la IgG anti–D, una "**aloinmunización residual"** al antígeno D en embarazadas. En un estudio realizado el 80% de los anticuerpos encontrados en las gestantes Rh negativas era un anti–D, lo cual corresponde a una prevalencia del 3% (55 casos en 1783 gestantes Rh negativas)[36]. Esta inmunización residual se debería a que no se administra la IgG anti–D porque no se indica, porque no se administra a pesar de estar indicada, se administra tardíamente o con dosis insuficientes y/o no se realiza administración antenatal.

Es posible disminuir la tasa de inmunización residual mediante una estricta adherencia a las recomendaciones o guías nacionales, en cada acto inmunizante y entre las 28 y 32 semanas de gestación para prevenir la "**inmunización silenciosa",** no ligada a ningún acto inmunizante, que ocurre más frecuentemente en el tercer trimestre de la gestación[56].

Una revisión reciente de la mayoría de los **estudios costo–eficacia** realizados concluye que un programa de prevención sistemática de la aloinmunización anti–D es muy rentable[57]. En dos estudios que analizan los costos brutos, los ligados al tratamiento de la aloinmunización anti–D, los costos por patologías evitables y los costos años de vida ajustados por calidad de vida se concluye que la prevención antenatal es sumamente benéfica en términos de costo–beneficio[58,59].

La determinación del fenotipo fetal RhD desde muestras de líquido amniótico, vellosidad coriónica y recientemente de plasma materno, es utilizada para establecer, en gestantes inmunizadas al antígeno D, la posibilidad o no de afectación fetal con el fin de evitar técnicas de diagnóstico y tratamiento prenatal[60]. Pero también puede utilizarse en gestantes Rh negativo no inmunizadas al antígeno D para evitar la inmunoprofilaxis antenatal cuando existen fetos Rh D negativo. En un trabajo reciente[61] se determinó el valor predictivo de la determinación del fenotipo RhD desde el ADN fetal obtenido del plasma materno validado con los resultados del fenotipo serológico obtenido al nacer. Con muestras obtenidas en promedio a las 28 semanas de gestación y utilizando una PCR en tiempo real

AGO47-1a3separata.indd 10 04/02/2011 09:33:51 p.m.

se encontró que 1118 (59,8%) eran RhD positivo, 670 (35,9%) RhD negativo, 14 (0,8%) falsos positivos, 3 (0,16%) falsos negativos e inconclusos 56 (3%) de los cuales 31 eran RhD positivo y 25 RhD negativo. Es decir, aproximadamente un tercio de las gestantes RhD negativo no inmunizadas no necesitarían inmunoprofilaxis antenatal. Sin embargo, en los casos de falsos resultados positivos recibirán inmunoglobulina anti–D innecesariamente y en los resultados falso negativo existiría la posibilidad de inmunización y morbimortalidad por EHP en gestaciones subsiguientes. Los casos con resultados inconclusos probablemente se deban a la existencia de variantes del antígeno D.

Se deben realizar estudios para establecer el verdadero costo–beneficio entre la realización del fenotipo RhD fetal y la realización de inmunoprofilaxis antenatal. Además, sería importante realizar la determinación del fenotipo fetal del plasma materno, como método no invasivo, en etapas más precoces de la gestación con el fin de evitar dosis antenatales de inmunoglobulina anti–D anteriores a la semana 28 de gestación.

Prevención de la inmunización anti–D por transfusión de eritrocitos RhD positivos

La prevalencia del anticuerpo anti–D producido por transfusión de eritrocitos RhD positivo a individuos RhD negativo, es desconocida[62]. La mayoría de los casos ocurren en hombres o mujeres de edad avanzada en los cuales los riesgos de la aloinmunización anti–D son menores. Sin embargo, la mayoría de los casos bien documentados de la efectividad de la IgRhD en prevenir la aloinmunización por transfusión ocurre en mujeres jóvenes con necesidad urgente de transfusión y falta de disponibilidad de eritrocitos RhD negativo.

En un estudio retrospectivo sobre 78 pacientes que recibieron transfusiones incompatibles RhD a los cuales no se les administró inmunoprofilaxis, se reporta un 30% de aloinmunización anti–D[63]. En otro estudio, también retrospectivo pero más reciente, de los 98 pacientes no oncológicos el anticuerpo anti–D se desarrolló en el 22% y de manera interesante los que recibieron eritrocitos leucorreducidos desarrollaron menos anticuerpos anti–D (13%)[64].

Algunos grupos de pacientes con disminución de la función inmune tienen un riesgo menor de inmunizarse. Por ejemplo, aquellos pacientes que reciben drogas inmunosupresoras para el tratamiento de enfermedades autoinmunes, hematológicas, oncológicas o trasplante de hígado o corazón[65]. También los que tienen una inmunodeficiencia, como por ejemplo los pacientes con SIDA[66].

En la mayoría de los países, como EUA por ejemplo, no hay guías sobre cómo realizar la inmunoprofilaxis con IgRhD para evitar la aloinmunización anti–D por la administración de hemocomponentes RhD positivo[62]. Varios factores importantes asociados a la administración de IgRhD como la dosis, la vía intramuscular o intravenosa, el tiempo óptimo de la infusión así como las reacciones adversas que pueden ocurrir faltan aún por ser estandarizados.

En 1971, Pollack y colaboradores[67] sugieren que una relación mínima de 10 mcg de IgRhD por cada mL de eritrocitos RhD positivos (10/1) es suficiente para prevenir la inmunización anti–D. Sin embargo, estudios clínicos posteriores han utilizado relaciones mayores 12, 18 y 24 mcg/mL por vía intramuscular para prevenir la aloinmunización anti–D por transfusión en pacientes mujeres jóvenes[68][69][70].

La dosis recomendada para la administración intramuscular sería de 20 mcg por cada ml de eritrocitos RhD positivo según las guías establecidas por el *British Committee for Standars in Haematology* de 2006[71]. Hasta 1500 mcg pueden administrarse en cada sitio de inyección. Dos sitios de inyección glútea pueden ser administrados simultáneamente.

Últimamente se utiliza la IgRhD por vía intravenosa para prevenir la aloinmunización anti–D por transfusión. Los productos de uso intravenoso tienen ciertas ventajas frente a los de uso intramuscular, como ser mayor pureza, dos métodos de inactivación viral, mejor confort para el paciente, menor dosis y *clearance* más rápido de los eritrocitos sensibilizados. La dosis recomendada por vía intravenosa sería de 12 mcg/ml de eritrocitos[71]. Se sugiere no administrar más de 2500 mcg por vez. Se puede dividir la dosis a la mitad y pasarla diluida en una hora y si no hay reacciones adversas administrar la segunda parte de la dosis[62]. Una paciente de 26 años que recibió IgRhD intravenosa para prevenir la inmunización anti–D por la administración de cuatro unidades de eritrocitos RhD positivos desarrolló fiebre y taquicardia lo cual fue resuelto con la administración de 200 mg de hidrocortisona[72]. En subsecuentes administraciones de IgRhD se realizó una premedicación con 100 mg de hidrocortisona y los síntomas no aparecieron.

En este estudio, a las 36 horas de la administración de la IgRhD intravenosa no había células RhD positivo detectables en la sangre de la paciente (TCD negativo). Luego de cinco meses se detectaban anticuerpos anti–D (TCI positivo) pero con una concentración baja de 0,16 UI por ml. A los 11 meses no había anticuerpos anti–D detectables en la sangre de la paciente. Seguramente los anticuerpos anti–D detectados a los cinco meses después de la infusión de IgGRhD eran anticuerpos pasivos por la dosis de inmunoglobulina recibida. En otro estudio el TCD fue negativo después de cuatro a seis días de la infusión de IgRhD y el TCI se negativizó recién después de los seis meses [73]. Si bien la vida media de las Ig tipo G es de 21 días, su desaparición en sangre puede ser mucho más tardía.

Con el fin de disminuir la dosis de IgRhD a administrar a aquellas mujeres RhD negativo en edad reproductiva activa que recibieron eritrocitos RhD positivos, se sugiere asociar la realización de una eritraferesis con glóbulos rojos RhD negativo para disminuir la cantidad de eritrocitos RhD positivo y luego realizar IgRhD intravenosa para cubrir la probable inmunización de los eritrocitos remanentes. Nester y colaboradores [74], reportan el éxito de dos casos de sexo femenino de 10 y 16 años, tratadas en primer lugar con eritraferesis de dos volemias eritrocitarias, a través de un separador Cobe–Spectra como los que existen en Uruguay y luego con IgRhD intravenosa a una dosis total de 2700 mcg dividida en tres dosis de 600 mcg cada 8 horas en el primer caso y de 900 mcg en el segundo caso (600 mcg iniciales y 300 mcg a las 8 horas). Posteriormente, Laspina y colaboradores[72], reportan un caso de una mujer de 26 años, RhD negativa que recibió cuatro unidades de eritrocitos RhD positivo por falta de disponibilidad de sangre RhD negativo. Aquí, una eritraferesis de una volemia eritrocitaria fue realizada e inmediatamente después se infundieron por vía intravenosa una dosis total de 24.000 UI de IgRhD para contrarrestar los 264 ml de glóbulos rojos RhD positivos remanentes. La dosis se fraccionó en 600 mcg (3000 UI) cada 5 horas a una velocidad de 50 UI por minuto. A los 70 minutos durante la infusión la paciente desarrolla fiebre y taquicardia que se resuelven con la administración de 200 mg i.v. de hidrocortisona. Luego de 36 horas no se encontraron eritrocitos RhD positivos en la circulación.

Si bien las plaquetas no presentan en su membrana los antígenos del sistema Rh, la aloinmunización anti–D puede ocurrir en aquellos pacientes, principalmente no inmunosuprimidos, que reciben concentrados plaquetarios pero que contienen eritrocitos RhD positivos como contaminantes.[75] Los concentrados plaquetarios (CP) derivados por centrifugación de la sangre total suelen tener de promedio entre 0,3 a 0,5 ml de eri-

AGO47-1a3separata.indd 11 04/02/2011 09:33:51 p.m.

trocitos, mientras que en los obtenidos por aféresis (CPA) sólo trazas[62].

Recientemente, Hasped y colaboradores[76] documentaron un caso de un niño RhD negativo de 17 semanas de vida que se aloinmunizó desarrollando un anticuerpo anti–D después de la infusión de dos CP con menos de 0,6 ml de eritrocitos RhD positivos contaminantes. Es ampliamente aceptado que la inmadurez del sistema inmune en neonatos raramente produce aloanticuerpos, sin embargo este caso sugiere que la formación de anti–D debe ser tenida en cuenta.

Una dosis de 20 mcg de IgGRhD intravenosa por cada mL de eritrocitos es recomendada para prevenir la aloinmunización anti–D de los CP. En los pacientes trombocitopénicos está contraindicada la vía intramuscular. En los pacientes jóvenes, trombocitopénicos no inmunosuprimidos o no inmunodeficientes, RhD negativo que requieran reposición con plaquetas es recomendable el uso de concentrados obtenidos por aféresis (CPA).

En suma, la inmunoprofilaxis con IgRhD para prevenir la aloinmunización anti–D por transfusión de hemocomponentes RhD positivo, también es altamente efectiva.

ANTICUERPOS MONOCLONALES

Hasta ahora no hay una opción alternativa, aprobada para su uso clínico, tan segura y eficaz como el uso de la inmunoglobulina anti–D (IgRhD) para la prevención de la aloinmunización y por ende, la EHP producida por este anticuerpo del sistema Rh.

Sin embargo, en los últimos años se han desarrollado nuevas estrategias como la inmunoglobulina anti–D monoclonal y la estimulación de la tolerancia inmunológica.

La IgRhD es preparada a partir del plasma de individuos inmunizados al antígeno D al cual se le realiza un proceso industrial de fraccionamiento e inactivación viral. Esta preparación acarrea dos problemas principales: uno es el del abastecimiento de la materia prima, el plasma hiperinmune sobre todo en la Comunidad Europea (CE) donde desde hace años se ha prohibido los protocolos de inmunización de sujetos sanos "voluntarios" Rh negativo para la obtención de plasma con fines de fraccionamiento. Las industrias importan plasma de América del Norte (EUA y Canadá).

El segundo problema son los aspectos éticos ligados a la inmunización de sujetos sanos, teóricamente voluntarios.

Los anticuerpos monoclonales, desde su descubrimiento en 1975 por Kohler y Milstein[77], tienen como ventaja que no necesitan como fuente plasma humano, reducen los costos de manufactura, son productos de alta pureza y no tienen riesgo de transmitir enfermedades, por lo cual no necesitan procedimientos de inactivación de patógenos. El objetivo de la primera etapa es seleccionar linfocitos B productores de anticuerpos humanos y la segunda es obtener la producción de anticuerpos monoclonales recombinantes anti–D. Actualmente, existen cuatro anticuerpos monoclonales anti–D recombinantes que se están investigando en ensayos clínicos[78–82].

INDUCCIÓN DE TOLERANCIA INMUNOLÓGICA

La administración por vía oral de antígeno induce la formación de células T supresoras (Treg)[83] e incluso puede abolir la respuesta inmune a la subsecuente infusión del antígeno por vía parenteral[84]. Sin embargo, la administración del antígeno D vía oral diariamente durante dos semanas no tuvo efecto en prevenir la respuesta inmune en voluntarios Rh negativo no inmunizados[85].

El antígeno RhD es altamente inmunogénico. Epitopes (fragmentos) de la proteína RhD inducen la proliferación *in vitro* de células T *helper* (Th) obtenidas de donantes aloinmunizados[86], en particular los péptidos Rh 52–66, RhD 97–111, RhD 117–131 y RhD 177–191.

La pregunta es si estos péptidos administrados por una vía que induzca tolerancia inmunológica pueden prevenir la respuesta inmune *in vivo* frente a la proteína RhD completa. Para responder a ella, el Dr. Stanislaw Urbaniak de la Universidad de Aberdeen en Escocia ha desarrollado un "modelo animal humanizado". La expresión del alelo HLA–DRB1–1501 está muy aumentada en los individuos Rh negativo que responden al antígeno D. Un modelo animal con un ratón transgénico HLA–DR15 fue seleccionado para este estudio previendo que la Proteína RhD humana puede generar una respuesta inmune en este modelo[87]. Luego cada uno de los péptidos dominantes fue testeado para determinar si producían inmunotolerancia cuando se administraban por la mucosa nasal.

En primer lugar, 100 microlitos de una solución de 2 mcg/ml de proteína RhD fueron inyectados subcutáneos y dos semanas después intraperitoneal en ratones transgénicos HLA–DR15 y en ratones no transgénicos para ver si desarrollaban anticuerpos anti–D, los cuales fueron medidos por un método enzimático y por inmunoprecipitación en gel (Diamed), que es la técnica que nosotros utilizamos para detectar anticuerpos durante la gestación. La estimulación de las células Th se demostró por la habilidad de los esplenocitos de los ratones inmunizados para proliferar *in vitro* en respuesta a la administración de la proteína RhD purificada. Los anticuerpos anti–D que se unen a glóbulos rojos humanos RhD positivos fueron detectados sólo en ratones transgénicos al igual que la proliferación de los esplenocitos[87].

En segundo lugar, una vez demostrada la respuesta inmune frente a la proteína RhD del modelo animal humanizado, se administró una dosis única de 50 microlitros de una solución de 2 mcg/ml de cada péptido dominante por vía nasal 15 días antes de la administración de la proteína RhD. La respuesta inmune (producción de anticuerpos anti–D y proliferación de esplenocitos) fue abolida en los ratones transgénicos HLA–DR15.

Dos péptidos el RhD52–66 y el RhD 117–131 fueron los más efectivos en producir tolerancia inmunológica frente a la proteína RhD. La administración de péptidos no dominantes (RhD 302–316) no produjo supresión de la respuesta inmune por lo cual la tolerancia es específica para péptidos dominantes de la proteína RhD[88].

El mecanismo de la supresión activa de la inmunización anti–D difiere al de la administración pasiva de inmunoglobulina anti–D. La IgRhD es un hemoderivado que depende para su producción de donantes humanos RhD negativo inmunizados, tiene un costo de manufactura con procedimientos de inactivación de patógenos, es necesario mantener un *stock*, produce inmunidad pasiva que tiene un efecto temporal por lo cual debe administrase en cada acto inmunizante y no suprime la respuesta inmune una vez que se ha producido.

Por el contrario, la tolerancia inducida por péptidos no es un producto humano, produce tolerancia inmunológica de forma activa, revierte la respuesta inmune en individuos inmunizados y puede realizarse antes o después de la respuesta inmune por transfusión o embarazo. Es crucial para inducir tolerancia la oportunidad y la ruta de administración de los péptidos dominantes.

BIBLIOGRAFÍA

1. Von Dungern F. Beitrage zur Immunitatslehr. Munch Med Wochenschr 1900; 47: 677.
2. Levine P. Serologicals factors as possible causes in spontaneous abortions. J Hered 1943; 34: 71–80.

AGO47-1a3separata.indd 12 04/02/2011 09:33:51 p.m.

3. Stern K, Davidson I, Masaitis L. Experimental studies on Rh immunization. Am J Clin Pathol 1956; 26: 833–843.
4. Kleihauer E, Braun H, Betke K. Demostration von fetalem Hamoglobin in den Erythrocyten eines. Blutausstrichs Klin Wochenschr 1957;35:637–638.
5. Smith T. Active immunity produced by so called balanced or neutral mixtures of diphteria toxin and antitoxin. J Exp Med 1909;11:241–256.
6. Stern K, Goodman H, Berger M. Experimental immunization to hemoantigens in man. J Immunol 1961;87: 189–198.
7. Finn R, Clarke CA, Donohoe WTA et al. Experimental studies on the prevention of Rh Haemolytic disease. Br Med J 1961; II : 1486–1490.
8. Clarke CA, Donohoe WTA, Mc Connell RB et al. Further experimental studies on the prevention of Rh haemolytic disease. Br Med J 1963 ; II: 979–984.
9. Freda J, Gorman JG, Pollack W. Succesful prevention of sensitizacion to Rh with experimental anti–Rh gammaglobulin antibody preparation. Fed Proc 1963; 22: 374.
10. Gorman JG, Freda J, Pollack W. Prevention of sensitization of Rh with anti–Rh gamma globulin. Fed Proc 1964; 23: 238.
11. Clarke CA, Sheppard PM. Prevention of rhesus haemolytic disease. Lancet 1965;II:526.
12. Freda J, Gorman JG, Pollack W. Prevention of rhesus haemolytic disease. Lancet 1965; II: 690.
13. Freda VJ, Gorman JG, Pollack W et al. Prevention of Rh isoimmunization. JAMA 1967; 199: 390–394.
14. Jouvenceaux A, Adenot N, Berthoux F et al. Lyophilised anti D gamma globulin given intravenously for the prevention of anti–Rh immunization. Rev Fr Transfus 1969; 12 (suppl): 341–347.
15. Woodrow JC, Clarke CA, McConnell RB et al. Prevention of Rh haemolytic disease: results of the Liverpool "low risk" clinical trial. Br Med J 1971; II: 610–612.
16. Schneider J. Tagungsberitche. IV. Arbeitstagung zur Prophylaxe der Rhesus–Sensibilisierung mit Immunoglobulin–anti–D. Geburtshilfe Frauenheilkd 1971; 31: 493–522.
17. Pollack W, Ascari WQ, Crispen JF et al. Studies on Rh Prophylaxis. II Rh prophylaxis after transfusion with Rh–positive blood. Transfusion 1971;11:340–344.
18. Zipursky A, Pollock J, Neelands P et al. The transplacental passage of foetal red blood–cells and the pathogenesis of Rh immunization during pregnancy. Lancet 1963;II : 489–493.
19. Bowman JM. Rh–isoimmunization. Modern Medicine of Canada 1977; 32: 17–25.
20. Rodríguez A, Decaro J Borelli C. La transfusión feto materna y la profilaxis por inmunoglobulina anti–Rh(D). Ann Fac Med 1979; 2: 123–127.
21. Scasso JC, Decaro J, Lieutier G y col. Enfermedad Hemolítica Perinatal por aloinmunización Rh (D). Montevideo: Ed. De la Plaza, 1983.
22. Cuadro JC, Scasso JC, Decaro J et al. Normas para la prevención, diagnóstico y tratamiento de la enfermedad hemolítica por conflicto Rh(D) Montevideo: Delta, 1981.
23. Reglamento Técnico de Medicina Transfusional del Mercosur – Decreto PE 385/00, Diario Oficial 9/01/2001. Montevideo: IMPO.
24. Decaro J. Enfermedad Hemolítica Perinatal (EHP). Montevideo: Ed. Rimarco. 2003.
25. Recomendaciones para la prevención, diagnóstico y tratamiento de la enfermedad hemolítica feto–neonatal y para la inmunoprofilaxis anti–D. Arch Gin Obstet 2005; 43: 169–176.
26. Mollison PL, Engelfriet CP, Contreras M. Blood transfusion in clinical medicine, 9th ed. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1993.
27. Kumpel BM. On the immunologic basis of Rh immune globlin (anti–D) prophylaxis. Transfusion 2006;46:1652–1656.
28. Samson D, Mollison PL. Effect on primary immunization of delayed administration of anti–Rh. Immunology 1975;28:349.
29. van Aken WG. Preparation of plasma derivates. En Rossi EC, Simon TL, Moss GS, Gould SA, eds. Principles of transfusion medicine, 2nd ed. Baltimore: Williams and Wilkins, 1995:403–13.
30. Crowther C, Middleton P. Anti–D administration after childbirth for preventing Rhesus alloimmunisation. The Cochrane Library Issue 3,2003. www,thecochranelibrary.com
31. Crowther C. Anti–D administration in pregnancy for preventing Rhesus alloimmunisation. The Cochrane Library Issue 3, 2003. www.thecochranelibrary.com
32. Coombs RR, Mourant AE, Race RR. Detection of weak and "incomplete" Rh agglutinin: a new test. Lancet 1945;246:15–16.
33. Manual Técnico. American Association of Blood Banks (AABB), 12th edition. Bethesda, Maryland 1996.
34. Bowman JM. The prevention of Rh immunization. Transfus. Med. Rev. 1988; 2: 129.
35. Heddle NM, Klama L, Frassetto R. A retrospective study to determine the risk of red cell alloimmunization and transfusion during pregnancy. Transfusion 1993;33:17–20.
36. Pereira A, Silveira S, Hernández C, Varela A, Gaggero M, Olivera P, Dilorenzi N, Gularte M, Larrosa V, Miller A y Decaro J. Erithrocyte antibodies in Pregnant Women. XXXI World Congress of de International Society of Hematology (ISH) 20–24 marzo, 2007. Punta del Este, Uruguay.
37. Erler BS, Smith L, McQuiston D, Pepkowitz SH, Goldfinger D. Red cell autoantibody production in utero: a case report. Transfusion 1994; 34: 72–74.
38. Williamson TD, Liles LH, Blackall DP. A maternal warm–reactive autoantibody presenting as a positive direct antiglobulin test in a neonate. Immunohematology 1997; 13: 68.
39. Wagner FF, Kasulke D, Kerowgan M, Flegel WA. Frecuencies of the blood groups ABO, Rhesus, D category VI, Kell, and of clinical relevant high–frecuency antigens in south–western Germany. Infusionsther Transfusionsmed 1995; 22: 285–290.
40. Lubenko A, Contreras M, Habash J. Should anti–Rh immunoglobulin be given to D variant women? Br. J. Haematol 1989; 22: 285–290.
41. Cannon M, Pierce R, Taber EB, Schucker J. Fatal hidrops fetalis caused by anti–D in a mother with parcial D. Obstet Gynecol 2003; 102: 1143–1145.
42. Lloyd–Evans P,Kumpel BM, Bromelow Y, Austin E and Taylor E. Use of a directly conjugated monoclonal anti–D (BRAD–3) for quantification of fetomaternal hemorrhage by flow cytometry.Transfusion 1996 ;36:432–437.
43. Salama A, David M, Wittmann G, Stelzer A, Dudenhausen JW. Use the gel agglutination technique for the determination of fetomaternal hemorrhage. Transfusion 1998; 38: 177–1880.
44. David M, Smidt J, Chen FCK, Stein U, Dudenhausen JW. Risks factors for fetal–to–maternal transfusion in Rh D–negative women–results of a prospective study on 942 pregnant women. J Perinat Med 2004; 32: 254–257
45. Adeniji AO, Mabayoje VO, Raji AA et al. Feto–maternal haemorrhage in parturients: Incidence and its determinants. J Obstet Gynecol 2008; 28: 60–63.
46. Bichler J, Schondorfer G, Pabst G, Andresen I. Pharmacokinetics of anti–D IgG in pregnat Rh–negative women. Br. J. Obstet Gynecol 2003; 110: 39–45.
47. Woelfer B, Schuchte K, Janisiw M et al. Postdelivery levels of anti–D IgG prophylaxis in D–mothers depend on maternal body weight. Transfusion 2004; 44: 512–517.
48. Zucker M, Zivelin A, Teitel J, Seligsohn U. Induction of an inhibitor antibody to factor XI in a patient with severe inherited factor XI deficiency by Rh immune globulin. Blood 2008; 111: 1306–1308.
49. Committee for Propietary Medical Products, Comission of European Comunities. Note for Guindance: core summary of product characteristics for human anti–D immunoglobulin in. Brussels; CEC, 1994 (III/3446392EN).
50. Royal College of Obstetricians and Gynaecologists. Clinical Green Top Guidelines. Use of anti–D immunoglobulin for Rh prophylaxis (22) 06/08/2002.
51. Koelewijn J, Haas M, Vrijkotte T, Bonsel G, van der Schoot C. One single dose of 200mcg of antenatal RhIG halves the risk of anti–D immunization and hemolytic disease of the fetus and newborn in the next pregnancy. Transfusion 2008;48:1721–1729.
52. Decaro J, Caldeyro Barcia R. Incidencia de individuos Rh(D) negativos en algunas poblaciones del Uruguay. Presentado en la IX Reunión de la Asociación Latinoamericana de Investigaciones en Reproducción Humana. Campinas–Brasil, noviembre de 1984.
53. Blood Types. www.wikipedia.org/wiki/bloodtype
54. International Forum. Vox Sang 2003;85:328–337.
55. Rodríguez–Villanueva J. Prevención de la aloinmunización materna con gammaglobulina anti–D. Sociedad Española de Transfusión Sanguínea (SETS) 2007;19(2):4–9.
56. Executive summary: Routine antenatal anti–D prophylaxis. Health Technology Assesment 2003;7.
57. Ravinet J, Carbonne B. Analyse économique de la prévention de la immunisation anti–D. J Gynecol Obstet Biol Reprod 2006; 35 (suppl 1): 1S104–1S111.
58. TorranceGW, Zipursky A. Cost–effectiveness of antepartum prevention of Rh immunization. Clin Perinatol 1984; 11: 267–281.
59. Chilcott J, Tappenden P, Lloyd Jones M et al. The economics of routine antenatal anti–D prophylaxis for pregnant women who are Rhesus negative. Br. J. Obstet Gynecol 2004; 111: 903–907.
60. Finning KM, Martin PG, Soothill PW, Avent ND. Prediction of fetal D status from maternal plasma:introduction of a new noninvasive fetal RHD genotyping service. Transfusion 2002;42: 1079–1085.
61. Finning K, Martin P, Summers J, Massey E, Poole G, Daniels G. Effect of high throughput RHD typing of fetal DNA in maternal plasma on use of anti–RhD immunoglobulin in RhD negative pregnant women: prospective feasibility study. Br. Med J. 2008; 336: 816–818.
62. Ayache S, Herman JH. Prevention of D sensitization after mismatched transfusión of blood components: toward optimal use of RhIG. Transfusion 2008; 48: 1990–1999.
63. Frohn C, Dumbgen I, Brand JM, Gorg S, Luhm J, Kichner H. Probability

AGO47-1a3separata.indd 13 04/02/2011 09:33:51 p.m.

of anti–D development in D– patients receiving D+ RBCs. Transfusion 2003; 43: 893–898.
64. Yazer MH, Triulzi DJ. Detection of anti–D in D–recipients transfused with D+ red blood cells. Transfusion 2007; 47: 2197–2201.
65. Ramsey G,Hahn LF, Cornell FW, Boczkowski DJ, Staschak S, Clark R, Hardesty RL, Griffith BP, Starzl TE. Low rate of Rhesus immunization from Rh–incompatible blood transfusions during liver and heart transplant surgery. Transplantation 1989; 47: 993–995.
66. Boctor FN, Ali NM, Mohandas K, Uehlinger J. Absence of D–alloimmunization in AIDS patients receiving D–mismatched RBCs. Transfusion 2003; 43:173–176.
67. Pollack W, Ascari WQ, Kochesky RJ, O`Connor RR, Ho TY, Tripodi D. Studies on Rh prophylaxis. Relationship between doses of anti–Rh and size of antigenic stimulus. Transfusion 1971; 11: 333–339.
68. Keith L. Anti–Rh therapy after transfusion. J Reprod Med 1972;8:293–298.
69. Keith L, Hauser GH. Anti–Rh immnune globulin after a massive transfusion accident. Transfusion 1971; 11: 176.
70. McElrath TG, Ascari WQ. Prevention of Rh immunization after transfusion with Rh positive blood. Am J Obstet Gynec 1971; 110: 309–311.
71. Parker J, Wray J, Gooch A, Robson S, Qureshi H for the British Committee for Standars in Haematology. Guidelines for the use of anti–D immunoglobulin for Rh prophylaxis 2006, London. www.bcshguidelines.org
72. Laspina S, O`Riordan JM, Lawlor E, Murphy WG. Prevention of post–transfusion RhD immunization using red cell Exchange and intravenous anti–D immunoglobulin. Vox Sang 2005; 89: 49–51.
73. Wegmann A, Hubner H, Erb H. Intravenous administration of anti–D hyperimmunoglobulin after mismatched transfusion. Dtsch Med Wochenschr 1976; 101: 1354–1356.
74. Nester TA, Rumsey DM, Howell DM et al. Prevention of immunization to D positive red blood cells with red blood cell exchange and intravenous Rh immunoglobulin. Transfusion 2004; 44: 1720–1723.
75. Atoyebi W, Mundy N, Croxton T, Littlewood TJ, Murphy MF. Is it necessary to administer anti–D to prevent RhD immunization after the transfusion of RhD–positive–platelets concentrates? Br J Haematol 2000; 111: 980–983.
76. Haspel RL, Walsh L, Sloan SR. Platelet transfusion in an infant leading to formation of anti–D: implications for immunoprophylaxis. Transfusion 2004; 44: 747–749.
77. Kolher G, Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. Nature (London) 1975; 256: 495–497.
78. Mieschner S, Spycher M, Amstutz H et al. A single recombinant anti–RhD IgG prevents RhD immunization: association of RhD–positive red blood cell clearance rate polymorphisms in the FcyRIIA and FcyIIIA genes. Blood 2004; 103: 4028–4035.
79. Bichler J, Spycher M, Amstutz H et al. Pharmacokinetics and safety of recombinant anti–RhD in healthy RhD–negative male volunteers. Transf Med 2004; 14: 165–171.
80. Kumpel BM. Efficacy of RhD monoclonal antibodies in clinicla trials as remplacement therapy for prophylactic anti–D immunoglobulin: more questions than answers. Vox Sang 2007; 93: 99–111.
81. Kumpel BM. New developments in the biological activity of anti–D monoclonal antibodies. Vox Sang 2007; 2: 75–77.
82. Cortey A, Brossard Y, Beliard R, Bourel D. Prévention de la allo–immunisation Rhésus–D foeto–maternelle. Perspectives. J Gynecol Obstet Biol Reprod 2006;35(suppl 1): 1S119–1S122.
83. Mattingly JA, Waksman B. Immunologic suppression after oral administration of antigen I. Specific suppressor cells formed in rats peyers patches after oral administration of sheeps erythrocytes and their systemic migration. J Immunol 1978;121:1878.
84. Hanson Dg, Vaz NM, Mais LCS et al. Inhibition of specific response by feeding protein antigens III evidence againts maintenance of tolerance to ovoalbumin by orally induced antibodies. J Immunol 1979; 123: 2337–2343.
85. Barnes R, Duguid J, Toberts F et al. Oral administration of erythrocyte membrane antigen does not supress anti–Rh(D) antibody response in humans. Clin Exp Immunol 1987; 67: 220–226.
86. Stott L, Barker RN, Urbaniak SJ. Identification of alloreactives epitopes on the Rhesus D protein. Blood 2000; 96: 4011–4019.
87. Hall A, Caims L, Almann D, Barker R, Urbaniak S. Immune responses and tolerance to the RhD blood group protein in HLA–trangenic mice. Blood 2005; 105: 2175–2179.
88. Avent N, Reid M. The Rh blood group system: a review. Blood 2000; 95: 375–387.

AGO47-1a3separata.indd 14 04/02/2011 09:33:52 p.m.

AGO47-1a3separata.indd 15 04/02/2011 09:33:52 p.m.

WinRho SDF®

Inmunoglobulina Humana IV e IM anti Rho (D).

LABORATORIOS CLAUSEN

AGO47-1a3separata.indd 16 04/02/2011 09:33:52 p.m.